

学位授与番号：甲 1062 号

氏 名：梶原 一紘

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 30 年 2 月 28 日

学位論文名：

**Fetal Therapy Model of Myelomeningocele with Three-Dimensional Skin  
Using Amniotic Fluid Cell-Derived Induced Pluripotent Stem Cells.**

(脊髄髄膜瘤ラットモデルを用いた iPS 細胞由来人工皮膚による胎児治療の有効性の検討)

学位論文審査委員長：教授 大橋十也

学位論文審査委員：教授 岡野ジェームズ洋尚 教授 小島博己

# 論文要旨

氏名	梶原 一紘	指導教授名	岡本 愛光
<b>主論文</b> 脊髄髄膜瘤ラットモデルを用いたiPS細胞由来人工皮膚による胎児治療の有効性の検討 (Fetal Therapy Model of Myelomeningocele with Three-Dimensional Skin Using Amniotic Fluid Cell-Derived Induced Pluripotent Stem Cells.)  Kajiwara Kazuhiro, Tanemoto Tomohiro, Wada Seiji, Karibe Jurii, Ihara Norimasa, Ikemoto Yu, Kawasaki Tomoyuki, Oishi Yoshie, Samura Osamu, Okamura Kohji, Takada Shuji, Akutsu Hidenori, Sago Haruhiko, Okamoto Aikou, Umezawa Akihiro. Stem Cell Reports. 2017; 6: 1701-1713.			
<b>要旨</b> 脊髄髄膜瘤は先天的な皮膚、脊椎、硬膜の欠損によって脊髄が体表に直接露出している疾患である。皮膚に覆われていない脊髄は羊水や胎便による神経障害を起こし、また脳脊髄液が流出してしまうため小脳、脳幹が脊椎腔内に落ち込んでしまうキアリ奇形および水頭症が発生する。このため出生時にはすでに不可逆的な神経障害が存在し、ほぼ全例に下肢運動機能障害を生じ、脳幹が障害を受ければ致命的となる。この神経障害を予防するために胎児治療の試みがされるようになり、2011年のThe New England journal of medicineで報告されたMOMS(Management of Myelomeningocele Study)が一定の評価を受けた。しかし同時に妊娠中の子宮を大きく切開することは早産や破水、胎盤早期剥離、子宮破裂などの重大なリスクの頻度が上昇することが明らかとなった。そのためより低侵襲で髄液漏出を予防するため、皮膚欠損部を覆うことができる組織の開発が一番の目的となっている。 そこで我々は羊水由来細胞からiPS細胞を樹立し、上皮細胞に分化誘導することで、自己の細胞由来の皮膚組織を作製し移植することで、より低侵襲な胎児治療を開発する。直接的縫合(直視下胎児手術)に比べる利点としては、胎児の皮膚の脆弱性が原因となって生じる縫合困難を回避できる。また胎児期の免疫寛容を期待できることや胎児の再生能力を期待するうえでも早い週数での治療の利点が多い。さらに胎児の成長を考慮すると単なる被覆材のみでは胎児の皮膚の成長に適合できない可能性があるため、我々の3D培養組織は生着、組織の再生に関して多いに効果が期待できる。またすでに生じてしまった不可逆性の神経障害に対しては、今後神経幹細胞の同時移植も研究の視野に入れている。我々の方法は従来の方法と比較してより低侵襲手術であり、また自己の皮膚の再生が期待できる画期的な治療法である。			

## 学位論文審査結果の要旨

梶原一紘氏の学位申請論文は主論文 1 編からなり、主論文のタイトルは「Fetal Therapy Model of Myelomeningocele with Three-Dimensional Skin Using Amniotic Fluid Cell-Derived Induced Pluripotent Stem Cells」、日本語では「脊髄髄膜瘤ラットモデルを用いた iPS 細胞由来人工皮膚による胎児治療の有効性の検討」と題され、2017 年に Stem Cell Reports 誌に発表された。同誌のインパクトファクターは 2016 年で 7.338 である。

平成 30 年 1 月 24 日、岡野ジェイムス洋尚、小島博己両審査委員ご出席のもとに公開学位審査会を開催し、梶原氏による研究概論の発表に続いて、口頭試験を実施した。試験では以下のような質問があった。

- 1、 今回の研究は羊水細胞を使用した iPS の樹立から開始したのか？
- 2、 Rho キナーゼ結合阻害薬と EGF を加えてケラチノサイトに分化させた後も分化しなかった細胞群があるが、これらの細胞は山中ファクターは発現しているのか？
- 3、 分化後も Oct3/4, NANOG が少量発現しているが、これらの細胞の形態を免疫染色などで確認したか？
- 4、 Down 症候群では hyperkeratosis であると述べたが、これに関してもう少し説明して欲しい。これは新しい知見か？
- 5、 人口皮膚の作成方法、その移植方法をもう少し詳しく説明してほしい。
- 6、 移植後の長期フォローアップのデータがあれば示してほしい。
- 7、 移植後、ラットの皮膚の elongation が得られたと述べたがその根拠は何か？
- 8、 移植をすると神経学的予後も改善するのか？
- 9、 移植によりキアリ奇形も予防できるのか？
- 10、 診断時期から羊水採取、iPS 作成ケラチノサイト分化、人口皮膚作成、移植までのタイムコースはどのようにしているのか？移植時期のタイムリミットを考えると実際には時間がないのではないか？
- 11、 移植後の皮膚のタイトジャンクションはどのようにしているのか？
- 12、 なぜ今回の実験で Down 症候群、双胎間輸血症候群の羊水細胞を用いたのか？ラットに移植するのでラットの羊水細胞では駄目か？
- 13、 診断時期、移植までのタイムコースを考えると、iPS を介さずに羊水細胞を直接ケラチノサイトに分化させる方が早いですが、そのような方法はあるのか？
- 14、 Down 症候群で hyperkeratosis を起こすメカニズムは何か？
- 15、 遺伝的な要因で脊髄髄膜瘤を起こす事はないのか？

上記質問に対して梶原氏は適切に回答した。その後、岡野、小島両教授と慎重に審議した結果、今回の研究は、脊髄髄膜瘤の有用な新規治療法に結び付く重要な研究であり、学位論文として十分にその価値が認められると結論した。